



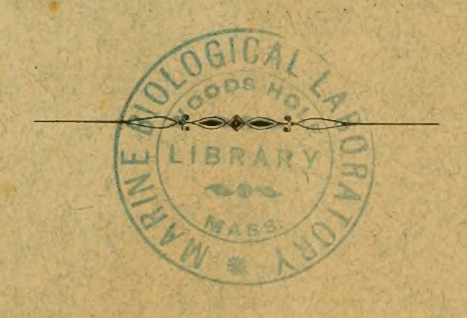
Aus dem botanischen Institut der Universität Kiel.

Über das Vorkommen von Nitrobakterien im Meere.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der hohen philosophischen Fakultät
der Königl. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
vorgelegt
von

Peter Thomsen
aus Hamburg.



Kiel.
Druck von Schmidt & Klaunig.
1908.



Aus dem botanischen Institut der Universität Kiel.



Über das Vorkommen von Nitrobakterien im Meere.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der hohen philosophischen Fakultät

der Königl. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt

von

Peter Thomsen

aus Hamburg.

Kiel.

Druck von Schmidt & Klaunig.

1908.

Rektoratsjahr 1908/9.

Zum Druck genehmigt:

Dr. **Sudhaus,**
z. Zt. Dekan.
30. November 1907.

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet!



Durch die vorliegende Arbeit beabsichtige ich einen Beitrag zur Kenntnis der Verbreitung der Nitrobakterien im Meere zu liefern.

Winogradsky[1]), der uns mit der Biologie der nitrifizierenden Organismen im Ackerboden bekannt gemacht hat, gibt schon in einer seiner ersten Publikationen der Meinung Ausdruck, daß das Wasser das einzige Medium sei, in dem die Verbreitung der Nitrobakterien erfolgen könne, da diese Organismen nach seinen experimentellen Untersuchungen eine außerordentlich geringe Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknung besäßen. Er schreibt: „Il n'existe pas, à ce que je sache, d'indications si l'eau de mer, puisée loin de la terre, contient des microbes nitrificateurs. Quant à leur propagation par d'autres voies, elle doit être assez restreinte, car le microbe est très-sensible à la dessication".

In einer späteren Abhandlung schreibt derselbe Autor[2]): „Ob das Meer die Verbreitung eines Nitritbildners begrenzen kann, weiß man noch nicht, denn man verfügt noch nicht über Beobachtungen darüber, ob diese Mikroben im Meerwasser verbreitet und wie lange sie darin lebensfähig sind.

Überhaupt sind genaue Beobachtungen über die Verbreitung dieser Mikroben in natürlichen Substraten, besonders in Gewässern, sehr spärlich. Quantitative Beobachtungen fehlen noch vollständig."

Tatsächlich lagen, als Winogradsky diese Zeilen schrieb, erst von Vernon und Brandt einige kurze Angaben über das Vorkommen der fraglichen Bakterien im Meer vor.

Was die Mitteilungen Vernon's[3]) betrifft, so scheinen mir dessen Feststellungen nicht einwandfrei zu sein (vgl. auch Nathansohn[6]), S. 366).

Die einzigen positiven Angaben über das Vorkommen der Nitrobakterien im Salzwasser stammen von Brandt[4]). In seiner Abhandlung „Über den Stoffwechsel im Meere II" weist er das Vorkommen nitrifizierender Bakterien in Bodenproben von verschiedenen Stellen der Kieler Föhrde nach. Es war zu beobachten, daß ammoniakhaltige Nährlösungen, die mit Schlickproben von Bellevue und Boje „D" beimpft waren, nach einiger Zeit auf Zusatz von Diphenylamin-Schwefelsäure Blaufärbung ergaben. Übertrug man eine Spur dieser oxydierten Zuchtflüssigkeiten in sterile Nährlösungen, so konnten in diesen nach einiger Zeit salpeter- oder salpetrigsaure Salze mit Diphenylamin-Schwefelsäure nachgewiesen werden.

Sonstige Mitteilungen über diesen Gegenstand, die sich in der Literatur vorfinden, berichten nur über negative Befunde. Auch hier handelt es sich wie bei Brandt um Küstengebiete. Gran hat diese Verhältnisse an der norwegischen Küste untersucht und Nathansohn beschränkte seine Forschungen auf den Golf von Neapel. Gran[5]) stellt das vollständige Fehlen der nitrifizierenden Bakterien in den durchforschten Küstengebieten fest. Zu denselben Ergebnissen gelangt Nathansohn[6]) für den Golf von Neapel. Nähere Angaben über diese Untersuchungen sind in seiner Abhandlung „Über die Bedeutung vertikaler Wasserbewegungen für die Produktion des Planktons im Meere" zu finden.

In dieser Schrift greift Nathansohn auf die eben angeführte Arbeit Brandt's zurück und glaubt auf Grund umfangreicher eigener Untersuchungen, die er in Neapel anstellte, mit Bestimmtheit das Fehlen der nitrifizierenden Bakterien im Golf von Neapel annehmen zu müssen. Er weist an dieser Stelle noch auf die ebenfalls negativen Ergebnisse Gran's bei dessen Untersuchungen an der norwegischen Küste hin und zieht daraus den Schluß, daß die Nitrobakterien im Meere normaler Weise nicht vorkommen. In bezug auf die Kieler Föhrde führt Nathansohn aus, daß dieses Meeresgebiet durch große Landnähe und schwachen Salzgehalt stark beeinflußt sei, daß daher positive Ergebnisse, wie Brandt sie fand, wenig beweiskräftig seien für die Verbreitung nitrifizierender Bakterien im offenen Meere.

[1]) Literaturangaben am Schluß der Arbeit.

Auch Gazert[7]), der bakteriologische Untersuchungen an Bord des „Gauß“ vornahm, konnte in dem untersuchten Material aus dem offenen Meere keine Salpeterbildner auffinden; doch sieht er in der von ihm benutzten Methode die Ursache seiner negativen Befunde. Er schreibt darüber: „Ich bediente mich der von Brandt bezw. Baur angegebenen Nährböden; doch ist der kulturelle Nachweis der nitrifizierenden Bakterien, d. h. der Salpeterbildner, mir nicht gelungen; das liegt sicher nicht daran, daß keine vorhanden sind, sondern vielmehr an der benutzten Methode.“

Zunächst bestand meine Absicht, die Beobachtungen auf die Kieler Föhrde resp. die Ostsee zu beschränken; doch machte es die eben angeführte Arbeit Nathansohn's wünschenswert, die fraglichen Verhältnisse auch in anderen Gebieten zu untersuchen. Durch Vermittlung des Herrn Prof. Paul Mayer erhielt ich Schlickproben aus Neapel. Von dort sind zu verschiedenen Terminen im Juni und Ende Oktober 1906 je vier Mudproben aus verschiedenen Tiefen an mich gelangt, deren völlig übereinstimmende Ergebnisse sich gegenseitig in einwandfreier Weise ergänzten. Außerdem sandte mir Herr Prof. Kuckuck eine Schlammprobe aus der Fahrrinne bei Helgoland.

Dem heimischen Salzwasserbecken, der Kieler Bucht, sind naturgemäß die Mehrzahl der untersuchten Grundproben entnommen worden. Vom Innenhafen bis zur Außenföhrde (Glockenboje) wurden Bodenproben aus Tiefen von 0 bis 20 m auf das Vorhandensein von Nitrobakterien untersucht. Für die Impfung von Kontrollkulturen wurden aus zwei Süßwasserbecken der Umgebung Kiels, dem Schreventeich und dem Schulensee, Grundproben entnommen. Dem gleichen Zweck dienten Erdproben vom Komposthaufen des botanischen Gartens und Sandproben vom Strande zwischen Friedrichsort und Schilksee.

Auf das Vorkommen der Nitrobakterien wurden ferner frische Algen der Kieler Bucht, lebendes und abgestorbenes Seegras, Planktonproben und frisch geschöpftes Seewasser untersucht.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind in den folgenden Abschnitten mitgeteilt. Zahlenmäßige Angaben und Belege finden sich in den beigefügten Tabellen.

Kulturmethoden und Reagenzien.

Als Nährlösung für den Nitritbildner wurde die bewährte Winogradsky'sche Nährlösung benutzt. [Zusammensetzung: Ammoniumsulfat 2—2,5 g, Dikaliumphosphat 1 g, Magnesiumsulfat 0,5 g, Chlorcalcium Spuren, dest. Wasser 1 l.] Zur Kultur der Nitratbildner diente ebenfalls die betreffende Nährlösung nach Winogradsky. [Zusammensetzung: Natriumnitrit 1 g, Dikaliumphosphat 0,5 g, Magnesiumsulfat 0,3 g, Natriumchlorid 0,5 g, $FeSO_4$ 0,4 g, destill. Wasser 1 l.] Statt des dest. Wassers verwandte ich für das Impfmaterial aus der Ostsee entweder Ostseewasser oder eine 1,5 bis 2prozentige Seesalzlösung. Das Impfmaterial aus der Nordsee (Helgoland) und aus dem Golf von Neapel wurde dagegen in einer 3,0 bis 3,7prozentigen Seesalzlösung angesetzt. Sämtliche Nährsalze stammten von Kahlbaum. Bei den mit Seesalz angesetzten Kulturen fand das im Handel erhältliche Verwendung.

Ich beschickte Erlenmeyer-Kolben mit der Kulturflüssigkeit, die durchschnittlich 1 cm hoch den Boden bedeckte. Basisch kohlensaure Magnesia wurde im Überschuß zugefügt und bildete einen Belag von etwa 2 mm Stärke. Handelte es sich um Kulturreihen, die miteinander verglichen werden sollten, so verwandte ich tunlichst Kolben von gleicher Gestalt und gleichem Rauminhalt, um einwandfreie Ergebnisse zu erhalten.

Vor der Impfung wurden die Kulturgefäße mit den fertigen Nährlösungen 15 Minuten lang im Autoklaven bei 120° sterilisiert. Für quantitative Untersuchungen der Oxydationsenergie des Nitritbildners ist dieses Verfahren bekanntlich nicht zulässig, da aus dem gelösten Ammoniumsulfat beim Erhitzen durch das zugefügte Magnesiumkarbonat Ammoniak in die Luft entweicht. Doch ergaben die Kulturgefäße nach erfolgter Sterilisation noch stets eine tiefgelbe Ammoniakreaktion, so daß der Prozeß der Nitritbildung und das allmähliche Verschwinden des Ammoniumsulfats gut beobachtet werden konnte. Für quantitative Bestimmung des verbrauchten Ammoniumsulfats ist jedoch das für sich sterilisierte, schwefelsaure Ammoniak direkt vor der Impfung den fertigen Nährlösungen in berechneter Menge zuzusetzen, wie dies auch Winogradsky angibt. Bei diesem Verfahren ist ein teilweises Freiwerden des Ammoniaks ausgeschlossen, da nachträglich keine Erhitzung stattfindet.

Als Impfmenge dienten 1 bis 4 Platinösen Substanz. Bei den letzten Kulturen sind größere Mengen (bis zu 2 ccm) verwandt worden, wie aus den Tabellen hervorgeht. Dies hatte einen etwas schnelleren Verlauf des Nitrifikationsprozesses zur Folge, da durch die verstärkte Impfung mehr Bakterien in die Nährlösung gelangten, vielleicht auch natürlichere Bedingungen im Kolben hergestellt wurden.

Zur chemischen Prüfung der Nitrifikationsprozesse wurden die von Winogradsky empfohlenen Reagenzien verwandt. Zur Untersuchung auf Ammoniak wurde Nessler's Reagens benutzt, auf Nitrite das Reagens von Trommsdorff. [Zinkjodidstärkelösung.] Zur Prüfung der Kulturen auf Nitrate diente Diphenylamin-Schwefelsäure (nach Zerstörung des Nitrits durch Aufkochen mit Harnstoff in saurer Lösung). Für den Gebrauch wurden diese Reagenzien in kleine, weiße Porzellannäpfchen gegossen. Mit steriler Platinöse entnahm man der Nährlösung einen Tropfen und berührte damit die Oberfläche der Indikatoren. War Ammoniak vorhanden, so ergab das Nessler'sche Reagens einen hellgelben bis gelbbraunen Fleck, je nach der Konzentration dieses Stoffes; auf Nitrite reagiert die Zinkjodidstärkelösung nach Trommsdorff mit tiefblauer Farbe, die sich bei reichlich Nitrit in kurzer Zeit im ganzen Näpfchen verbreitet. Diphenylamin-Schwefelsäure fand dort Verwendung, wo nitrithaltige Nährlösungen ihr Nitrit verloren hatten und keine Färbung nach Trommsdorff ergaben. Nitrate machten sich dann in der Diphenylamin-Schwefelsäure durch dunkelblaue Färbung bemerkbar. In Fällen, wo Nitrit noch vorhanden war, Nitrat jedoch vermutet wurde, zerstörte man ersteres, indem 2 bis 3 ccm der Kulturflüssigkeit mit Schwefelsäure schwach angesäuert wurden. Nach Zusatz von Harnstoff wurde aufgekocht. Durch diese Behandlung war das Nitrit zerstört, Nitrate konnten dann mit Diphenylamin-Schwefelsäure nachgewiesen werden.

Die Prüfung der Kulturen fand tunlichst alle 3 bis 4 Tage statt; nur bei den Kulturen, die während der akademischen Ferien stehen blieben, konnte dies nicht innegehalten werden. Hier fand eine Untersuchung zuweilen erst nach Monaten statt, wenn der Nitrifikationsprozeß schon seit längerer Zeit beendet war. Näheres hierüber ist bei den betreffenden Tabellen vermerkt. Bei der Reaktion auf Nitrite ging die Färbung in 2 bis 6 Tagen von blaßblau in dunkelblau über, wenn die Nitrifikation eingesetzt hatte. Als erste starke Nitritreaktion ist stets das erste Auftreten einer intensiven Bläuung bezeichnet worden.

War eine größere Anzahl Kolben, welche alle dieselbe Nährlösung enthielten, mit dem gleichen Material beimpft worden, so konnte man beobachten, daß die betreffende Reaktion in allen Kulturen fast gleichzeitig eintrat. Besonders gut läßt sich das bei den Neapler Sendungen verfolgen. Es hängt dies natürlich von der möglichsten Gleichheit aller Faktoren ab. Deshalb ist stets auf gleiche Temperatur, gleiche Quantität des Impfmaterials und der Nährlösung geachtet worden.

Vorkommen und Verbreitung der Nitrobakterien im Meere.

In der Praxis der Salpetergewinnung hatte sich schon seit Jahrhunderten gezeigt, daß die Nitrifikation im Erdboden erst mit der Salpeterbildung ihr Ende erreicht hat. Das Auftreten von salpetrigsauren Salzen in nitrifizierenden Flüssigkeiten wurde daher zunächst als eine, durch ungünstige Bedingungen verursachte, unvollständige Oxydation des Ammoniaks aufgefaßt. Erst allmählich brach sich die Anschauung Bahn, daß Nitrit- und Salpeterbildung zwei getrennte Prozesse sind, die vollständig unabhängig voneinander verlaufen können und durch zwei verschiedene Organismen hervorgerufen werden.

Winogradsky war es, der die Lebensbedingungen jener zwei Bakterienspezies in exakter Weise feststellte und nach seinen grundlegenden Arbeiten beherrscht man jetzt den Nitrifikationsprozeß im Laboratorium vollkommen. Während die Oxydation der Ammoniumsalze im Erdboden durch gleichzeitige Wirksamkeit beider Bakterienarten immer bis zur Salpeterbildung fortschreitet und hier nur geringe Mengen von Nitriten vorübergehend gebildet werden, ist es unter künstlichen Bedingungen, wie sie in der Nährlösung vorliegen, anders. Hier setzt zuerst Nitrosomonas mit seiner Tätigkeit ein, erst wenn durch ihn alles Ammoniumsulfat in Nitrit umgewandelt ist, beginnt Nitrobakter die Oxydation der salpetrigsauren Salze; da seine Vermehrung durch die Ammoniumverbindungen, welche in der alkalischen Kulturflüssigkeit vorhanden waren, stark gehemmt wurde.

Im Interesse einer übersichtlichen Darstellung meiner Ergebnisse möchte ich die Erreger dieser beiden Phasen des Oxydationsvorganges auch gesondert betrachten und vorerst die Verbreitung des Nitritbildners schildern. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß im Salzwasser jene beiden Spaltpilze nicht immer miteinander vergesellschaftet vorkommen, wie dies im Ackerboden der Fall ist.

I. Nitritbildner.

Ich berichte zunächst über die Versuche, die mit festsitzenden und Planktonalgen als Impfmaterial angestellt wurden. Es war nicht ausgeschlossen, daß die Nitrobakterien auf der schleimigen Oberfläche mancher Algen heimisch waren, wie dies für Azotobakter nachgewiesen ist. Für die Kulturen wurden folgende Algen benutzt: *Fucus vesiculosus, Fucus serratus, Delesseria sanguinea, Fostigiaria furcellata, Laminaria saccharina* und *Ceramium rubrum.* Die Algen stammten von verschiedenen Stellen der Kieler Bucht, die Mehrzahl derselben wurde auf einer vom botanischen Institut Anfang August 1906 unternommenen Exkursion gesammelt. Diese Pflanzen wuchsen auf einer unterseeischen Landzunge (Strander Grasberg) bei Boje „C“ in etwa 16 m Tiefe. Von den Algen wurden zunächst kleine Thallusstücke mit einem sterilen Skalpell herausgeschnitten und in die Erlenmeyer-Kolben gebracht. Um möglichst wenig organische Substanz in die Nährlösungen zu bringen, benutzte ich für einige Kulturen nur den zähen Schleim, der den großen Thallus von *Laminaria saccharina* überzieht, zur Impfung. Dieser läßt sich leicht mit einem Skalpell vom festen Thallusgewebe abkratzen.

Selbst nach mehreren Monaten war in keinem Kolben das Auftreten von nitritbildenden Bakterien nachweisbar. In den ammoniakalischen Nährlösungen ließ sich niemals eine Umwandlung des Ammoniaks in Nitrit feststellen.

Ebenso ergebnislos blieben die Versuche in Planktonproben Nitritbakterien aufzufinden. Zu den sterilisierten Nährlösungen wurde eine Probe des unter allen Kautelen gewonnenen Planktons zugesetzt; doch konnte auch nach Monaten keine Nitritbildung beobachtet werden, während stets Ammoniakreaktion vorhanden war. Das Plankton stammte von verschiedenen Punkten der Kieler Föhrde. Außerdem verfügte ich über einige Kulturen, die mit Plankton beimpft waren, welches im Europ. Nordmeer*) gefischt und an Ort und Stelle in die sterilen Kolben eingetragen war. Auch in diesen Kulturen fand keine Oxydation des Ammoniaks statt.

Negative Befunde erhielt ich auch, falls zur Impfung der sterilisierten Nährlösung einige ccm frischen Seewassers verwandt wurden, das wenige Stunden vorher in der Außenföhrde geschöpft war. Wenn man frisches Seewasser mit Nährsalzen in passendem Verhältnis versetzte und die damit beschickten Kolben ohne jede Sterilisation im Wärmeschrank bis 28° C oder bei Zimmertemperatur aufbewahrte, konnte in keinem Falle Nitritbildung festgestellt werden.

Da alle erwähnten Versuchsanstellungen ergebnislos verliefen, so ist es nicht erforderlich, Tabellen darüber mitzuteilen; doch soll auf den mutmaßlichen Grund des Fehlens der Bakterien später eingegangen werden.

Eine Phanerogame des Salzwassers *Zostera marina* wurde auf das Vorhandensein von Nitritbakterien untersucht. Benutzte man zur Impfung einige grüne Blattstückchen der lebenden Pflanze, so zeigte sich in keiner Nährlösung Bildung von Nitrit aus Ammoniak. Die Kulturflüssigkeit blieb unverändert. Auch mit abgestorbenem Seegras, das jenseits der Grenze des lebenden anzufinden ist und dort dicht über dem Grunde in größeren Ansammlungen umhertreibt, wurden Kulturen angesetzt, die erfolglos blieben. Nur auf angeschwemmtem Seegras gelang es mir, den Nitritbildner aufzufinden. Ich benutzte dazu einige Proben fast völlig verfaulten Seegrases, wie es durch die Wellen in kleinen Ballen ans Land gespült wird. Diese sind am Sandstrande zwischen Friedrichsort und Schilksee in feuchtem Zustande gesammelt worden. Einige Blätter davon wurden in Kolben mit ammoniakhaltiger Nährlösung eingebracht. Nach 30 Tagen befand sich in den Kulturen kein Ammoniumsulfat mehr, dagegen war viel Nitrit vorhanden. Da weder an lebendem noch an abgestorbenem Seegras, das aus dem Wasser gefischt war, Nitritbildner gefunden wurden, so ist diese Beobachtung um so interessanter. Wahrscheinlich sind die Organismen erst vom Grunde

*) Herr Marine-Assistenzarzt Dr. Schütze hatte die Güte, die Beimpfung für mich vorzunehmen. Ort: I. 63° 38′ n. Br. 4° 1′ östl. Länge; II. 63° 15′ n. Br. 4° 40′ östl. Länge. Zeit: 4. 8. 06.

oder vom Festlande auf die abgestorbenen Pflanzen gelangt, da sie im Seewasser nach den erhaltenen Resultaten nicht vorhanden sind.

Zu diesen negativen Befunden stehen die Ergebnisse der mit Grundproben angesetzten Kulturen in ausgesprochenem Gegensatz. Zur Gewinnung des Materials aus der Föhrde bediente ich mich der Schlammröhre. Diese besteht aus einem eisernen Hohlcylinder von 30 cm Länge und 1/2 cm Wandstärke, der an einem Ende offen ist. Hier befindet sich auch die Öse für das Schlepptau. Der Durchmesser des Rohrlumens beträgt 4 cm. Bei langsamer Fahrt wird die Röhre mit der Mündung nach vorne auf dem Grunde hingezogen. In das offene Ende dringt dabei etwas Schlick von der Bodenfläche und füllt die Röhre an. Nach dem Heraufziehen wurde der Mud sofort in sterilisierte, mit Watte verschlossene Kolben gefüllt. Man hat bei der Schlammröhre die Gewähr, daß der Schlick von der Oberfläche des Grundes stammt und nicht aus den sauerstoffarmen, tieferen Schichten.

In gleicher Weise wurden auch die Proben aus den süßen Gewässern (Schulensee, Schreventeich) entnommen. Hier wurde der grünlich-graue Schlick, der die tiefsten Stellen dieser Wasserbecken bedeckt, zur Impfung benutzt, während aus der Föhrde nicht nur Mud, sondern auch tonige und sandige Proben zur Impfung verwandt worden sind. Mit der Platinöse oder der Spitze eines sterilen Skalpells wurde die Grundprobe in die fertigen Nährlösungen gebracht. Vom Strande bei Friedrichsort sind aus 10 cm Tiefe mit dem Spatel Sandproben entnommen worden. Ebenso erhielt ich die Erdproben vom Komposthaufen des botanischen Gartens, mit denen eine größere Anzahl Kontrollkolben beimpft worden sind.

Auf Grund sehr zahlreicher Versuche, die zum Teil in den Tabellen wiedergegeben sind, habe ich die Überzeugung gewonnen, daß sich Nitrosomonas in allen untersuchten Grundproben vorfindet. Regelmäßig trat nach Verlauf einer gewissen Zeit, die nach der Herkunft und Menge des Impfmaterials, nach der Temperatur des Standortes der Kolben usw. sehr schwanken konnte, in den ammoniakhaltigen Kulturen ein Verschwinden des Ammoniaks und Nitritreaktion ein. Wurde neues Ammoniumsulfat in Form von einigen Tropfen einer 10prozentigen Lösung zugesetzt, so war auch dieses nach kurzer Zeit in Nitrit verwandelt, und durch häufige mikroskopische Untersuchung konnte das Vorhandensein des Nitritbildners in den Kulturen festgestellt werden. Näheres darüber findet sich in dem Abschnitt über die Morphologie.

In gleicher Weise verhielten sich die Nährlösungen, die mit den Grundproben aus Neapel und der Fahrrinne bei Helgoland beimpft waren. Überall konnte auch hier die Abhängigkeit der Intensität des Nitrifikationsprozesses von Temperatur und Seesalzgehalt konstatiert werden, die für die organische Natur dieses Vorganges so charakteristisch sind.

Ein einziges Mal wurde ein Fehlen des Nitritbildners in zwei Grundproben beobachtet. Es handelte sich um Material, das mir durch Herrn Professor Lohmann übermittelt war. Während sonst der Schlick stets mit der Schlammröhre gefischt wurde, war hier die Bodensonde zur Anwendung gelangt. Ich erhielt zwei cylindrische Schlammstücke in sterilisierten Gläsern und muß vermuten, daß diese Mudproben nicht der Oberfläche sondern einer tieferen Schicht entstammten, die den Nitritbildnern durch Sauerstoffmangel keine Lebensbedingungen bietet. Mit dem eben erwähnten Material waren 12 Erlenmeyer-Kolben von gleicher Größe beschickt worden. Die Hälfte der Kulturen stand im Wärmeschrank bei 28° C. Im Laufe von einem Monat zeigte nur einer der bei 28° C. stehenden Kolben ein Verschwinden des Ammoniaks und das Auftreten einer starken Nitritreaktion. Die übrigen Kulturen blieben auch bei fernerer Beobachtung ohne Nitrit. Sonst sind mit allen verwandten Bodenproben nur positive Befunde erhalten worden.

II. Nitratbildner.

Wie ich hervorheben möchte, habe ich zunächst nur den Nitritbildner in den Grundproben auffinden können, während der Nitratbildner vollständig zu fehlen schien.

Auffallend war schon, daß ammoniakhaltige Kulturen, die das Ammoniumsulfat vollständig in Nitrit verwandelt hatten, selbst nach wochenlangem Stehen eine tiefschwarze Nitritreaktion behielten. Das Nitrit blieb auch in den Fällen vorhanden, wo der Kolben nach vollendeter Nitritbildung nicht wieder mit einigen Tropfen Ammoniumsulfat versehen wurde, um die Nährlösung mit Nitrosomonas anzureichern. Es wäre sehr wohl denkbar gewesen, daß Nitrobakter durch das lange Verweilen in der ammoniakalischen Kultur-

flüssigkeit abgestorben wäre; dem widersprach jedoch die Tatsache, daß gleiche Nährlösungen, die als Impfmaterial nicht Schlick, sondern Erde vom Komposthaufen enthielten, häufig bei günstiger Temperatur in wenigen Tagen das gebildete Nitrit vollständig in Nitrat umwandelten, falls die Zugabe von Ammoniumsulfat einige Tage lang unterblieben war.

Da die Schlickkulturen gegenüber den Kompostkulturen relativ lange Zeit gebrauchten, bevor kräftige Nitrifikation eintrat, so konnte in den Seesalzlösungen der Nitratbildner vielleicht durch die längere Hemmung abgetötet werden, während er die kürzere Ruheperiode in den Festlandskulturen noch ertragen konnte. Um über diese Fragen Klarheit zu schaffen, wurden bei späteren Impfungen mit Schlick nicht nur ammoniakhaltige Nährlosungen verwandt, sondern gleichzeitig sind die Grundproben in nitrithaltige Zuchtflüssigkeiten gebracht worden. Doch auch in diesen Kulturen trat bei den ersten Versuchsreihen niemals Nitrat auf, die tiefschwarze Nitritreaktion nach Trommsdorff hatte selbst nach Monaten ihre alte Stärke.

Ebenso zeigte sich in den Nährlösungen, die mit Seegras, Algen, Plankton oder Seewasser aus der Föhrde angesetzt waren, nirgends die Bildung von Nitrat. Nur Kolben, die als Impfmaterial das schon erwähnte, angeschwemmte Seegras enthielten, hatten nach 24 Tagen ihr Nitrit vollständig in Nitrat umgewandelt. [s. Tabellen 11 und 12.]

Das Vorkommen des Nitratbildners im Salzwasser wurde zuerst in dem Neapler Material bemerkt. Auch hier schien Nitrobakter abwesend zu sein. Fast zwei Monate (58 Tage) waren verflossen, bis plötzlich alle Kulturen aus 20 m Tiefe (500 m vom Lande) keine Nitritreaktion mehr ergaben; dagegen eine äußerst starke Bläuung mit Diphenylamin. Wurden einige Tropfen einer 10 prozentigen Natriumnitritlösung diesen Kulturen zugefügt, so war in wenigen Tagen auch hier wieder die Nitritreaktion verschwunden, während die tiefe Blaufärbung mit Diphenylamin anhielt. Merkwürdigerweise zeigte sich in den übrigen 9 Kolben nichts, die Nitritreaktion blieb in gleicher Stärke erhalten und als nach 105 Tagen die Nährlösungen nach Piccini untersucht wurden, konnte kein Nitrat festgestellt werden. [s. Tabelle 19.]

Ihre Bestätigung fanden diese Befunde durch Kulturen aus der Kieler Föhrde. Im Hafen waren mehrere Grundproben in großer Nähe des Landes entnommen und diese enthielten beide Nitrobakterienspezies. [s. Tabelle 15.]

Bei den ersten Impfungen mit Ostseeschlick hatte ich mich stets bemüht, die Bodenproben möglichst weit vom Ufer zu entnehmen, um Infektion durch eingeschwemmte Festlandsorganismen auszuschließen. Es konnte sich allerdings in der Außenföhrde stets nur um relativ geringe Entfernungen vom Ufer und um eng begrenzte Tiefen handeln; doch scheint der Nitratbildner tatsächlich mehr als 500 m vom Lande nicht vorhanden zu sein. Wenigstens habe ich bei zahlreichen Versuchsanstellungen diesen Eindruck gewonnen, der auch mit den Neapler Ergebnissen in Einklang steht. Es war mir leider nicht möglich, aus der Nordsee bei Helgoland noch einmal Material aus verschiedenen Entfernungen vom Ufer zu erhalten, um auch hier diese Verhältnisse zu untersuchen. Dies würde die Aufgabe einer späteren Arbeit sein, die auch festzustellen hätte, wie weit sich die Verbreitung der Nitrobakterien ins Meer hinein erstreckt. Theoretisch stände der allgemeinen Verbreitung des Nitritbildners in den großen Meeren nichts im Wege, denn er hat sich im Golf von Neapel an den Seesalzgehalt von 3—3,5% und an die Tiefe von 100 m vollkommen angepaßt; ob sich sein Vorkommen nicht nur auf Küstengewässer beschränkt, ist eine Frage, die noch der experimentellen Lösung harrt.

Alle bis jetzt erwähnten Versuchsanstellungen verfolgten den Zweck, das Vorkommen der Nitrobakterien im Salzwasser festzustellen und, falls möglich, die von ihnen bewohnten Örtlichkeiten enger zu umgrenzen.

Überblickt man unter diesem Gesichtspunkt alle Ergebnisse, so fällt die Tatsache auf, daß nur die Grundproben in allen Fällen eine oder selbst beide Spezies der nitrifizierenden Organismen enthielten, während sie im Seewasser und auf den untersuchten Pflanzen aus der Kieler Bucht vollständig fehlten. Daraus darf man schließen, daß der Meeresboden diesen Spaltpilzen bessere Lebensbedingungen bietet, als die eben erwähnten anderen Medien. In den folgenden Zeilen möchte ich eine Begründung dieser Annahme versuchen.

Trotzdem die Nitrobakterien relativ niedrige Ansprüche an die Nährlösung stellen, werden die außerordentlich geringen Mengen von Ammoniumverbindungen, die im Seewasser vorhanden sind, wohl

nicht genügen, um ihnen ein zahlreiches Vorkommen zu ermöglichen. Auch auf den lebenden Pflanzen und auf dem Plankton stehen den Bakterien nur die Salze des umgebenden Meerwassers zur Verfügung, da sie bekanntlich keine organischen Stoffe verwerten können, sondern diese als Gifte empfinden. Es ist jetzt leicht verständlich, daß sie sich dort ebensowenig wie im Wasser vorfinden, weil ihnen ihre Energiequelle, das Ammoniak, fehlt. Dagegen bietet ihnen der Schlick günstigere Lebensbedingungen, die dem Ackerboden, in dem ihre Tätigkeit zuerst beobachtet wurde, weit mehr entsprechen. Wie auf dem Festlande faulen auch hier ständig Reste tierischer und pflanzlicher Organismen, deren Leichen aus höheren Wasserschichten herabgesunken sind. Dieser Fäulnisprozeß liefert stets neue Mengen von Ammoniumverbindungen, die der Oxydation des Nitritbildners anheimfallen können.

Diese Ausführungen zeigen, daß man auf das Vorkommen von Nitritbakterien im Seewasser, sei es in der Nähe der Küste, sei es in der Hochsee, nur da rechnen darf, wo ihnen genügende Mengen von Ammoniumverbindungen zur Verfügung stehen. Während ich in diesem Punkte mich den gleichsinnigen Ausführungen Nathansohn's anschließe, bin ich doch in der Frage nach dem Vorkommen der Nitrobakterien auf dem Meeresgrunde zum gerade entgegengesetzten Resultate gelangt, als dieser Forscher.

Wie einleitend erwähnt, glaubt Nathansohn auf Grund seiner Untersuchungen das Fehlen der nitrifizierenden Bakterien im Golf von Neapel nachgewiesen zu haben. Er schreibt: „Ich impfte mit Wasser oder Schlamm aus den verschiedensten Teilen des Golfes, konnte aber niemals das Eintreten der Salpeterreaktion auch bei wochenlangem Stehen beobachten.“ Um den Widerspruch meiner positiven Befunde gegenüber den Nathansohn'schen negativen Resultaten aufzuhellen, habe ich auch mit der von ihm benutzten Nährlösung einige Kulturreihen angesetzt. Auf Grund dieser Versuche halte ich diese Kulturflüssigkeit für die Ursache seiner negativen Befunde. Nathansohn's Zuchtflüssigkeit hat nämlich wegen ihrer unvollkommenen Zusammensetzung [Seewasser, 0,01—1 % NH_4Cl, $MgCO_3$ im Überschuß] eine weit weniger günstige Wirkung als die Winogradsky'sche Nährlösung. Es ist kaum anzunehmen, daß die fehlenden Phosphorsalze im Impfschlick und im Seewasser in ausreichender Menge vorhanden sind. Daher gebrauchten z. B. die Neapler Kulturen, die ich mit der Nathansohn'schen Nährlösung ansetzte, unter sonst vollkommen gleichen Bedingungen (Temperatur, Beleuchtung, Impfmaterial) fast die doppelte Zeit, als die Kulturen nach Winogradsky, ehe eine starke Nitritreaktion eintrat. Ähnlich wirkte diese Nährlösung, falls Komposterde als Impfmaterial benutzt wurde. Während die Winogradsky'schen Kulturen das Ammoniumsulfat durch die Tätigkeit von Nitrosomonas und Nitrobakter vollständig in Nitrat verwandelt hatten, war in den Kolben mit Nathansohn'scher Kulturflüssigkeit noch überall Ammoniak vorhanden und nur Nitrit gebildet worden. Nähere Angaben über die Versuchsergebnisse finden sich in den Tabellen 14, 20, 1.

Vielleicht hat Nathansohn die Schlammkulturen nicht lange genug beobachtet, vielleicht haben auch ungünstige Temperaturverhältnisse den Oxydationsprozeß noch mehr verzögert.

Morphologie des Nitritbildners.

Diese Beobachtungen über die Morphologie des Nitritbildners aus dem Salzwasser sind an Schlickreinkulturen gemacht worden. Der Schlick stammte aus der Kieler Förde und war Anfang März 1906 zwischen Möltenort und Friedrichsort in etwa 10 m Tiefe gefischt worden. Zur Impfung jedes Kolbens wurden zwei Platinösen von diesem Material genommen. Im Schlick ließ sich durch das Reagens von Trommsdorff kein Nitrit nachweisen. Die beimpften Kolben wurden in Zwischenräumen von 3—4 Tagen auf Nitritbildung nach Trommsdorff und auf Ammoniakverbrauch nach Neßler untersucht. Nachdem das zugesetzte Ammoniumsulfat aus den Nährlösungen verschwunden war, wurde die Vermehrung des Nitritbildners durch wiederholte Gaben einiger Tropfen 10prozentiger steriler Ammoniumsulfatlösung in den Kulturgefäßen gefördert. Nach mehrmaliger Überimpfung dieser Rohkulturen in sterile, ammoniakalische Nährlösungen, enthielten die Kolben den Nitritbildner zwar nicht rein, aber die verunreinigenden Organismen waren durch die rein mineralische Nährlösung, welche ihnen gar keinen günstigen Nährboden bot, schon sehr zurückgedrängt. Eine gut nitrifizierende Kultur wurde dann zu wiederholten Malen mit einigen Tropfen einer 10prozentigen Ammoniumsulfatlösung verstärkt und darauf zur Beimpfung von Magnesiagipsplatten nach Omeliansky benutzt.

Mit steriler Platinöse entnahm man der flüssigen Nährlösung ein Tröpfchen und breitete es auf der glatten Oberfläche der Platte in parallelen Strichen aus. Die Platte hatte etwa 1 cm Dicke und war vorher in der Petri-Schale 15 Minuten bei 120° sterilisiert. Die Nährlösung reichte etwa bis zur halben Höhe, wie dies Winogradsky vorschreibt. Wenn die Petri-Schalen im Wärmeschrank standen, so trat schon nach 3—4 Tagen kräftige Nitritreaktion auf. Nach 8—10 Tagen konnte man mit bloßem Auge auf den reagierenden Platten gelbe Flecke erkennen, die bei genauerer Betrachtung mit dem Präpariermikroskop sich auf den Impfstrichen zeigten. Mit der Platinnadel wurde einer dieser Flecke abgehoben und mit Jodjodkalium behandelt. Er erwies sich unter dem Mikroskop als ein einheitlicher Haufen von rundlich-ovalen Zellen.

In anderen Präparaten zeigten sich diese Organismen vielfach wurstförmig verlängert oder bisquitförmig eingeschnürt.

Beimpfte man die Magnesiagipsplatten direkt mit einer kleinen Kolonie, indem ein gelbes Fleckchen mit der Platinnadel auf einer sterilen Platte ausgestrichen wurde, so traten die Impfstriche schon nach 4—5 Tagen auf, und die in der Petri-Schale befindliche Nährlösung gab nach 2—3 Tagen eine starke Nitritreaktion. Von einer solchen Platte wurde eine größere Anzahl steriler Kolben beimpft, die dann ständig der mikroskopischen Untersuchung unterworfen wurden. Auf diese Weise gelang es, in einigen Kolben den Nitritbildner rein zu erhalten, dessen Morphologie jetzt geschildert werden soll.

Wird eine ammoniakhaltige Nährlösung beobachtet, die mit einer gut nitrifizierenden Kultur beimpft worden ist, so bemerkt man zunächst äußerlich nichts. Die Flüssigkeit bleibt vollkommen klar. Nach 4—5 Tagen zeigt die Nährlösung die erste starke Nitritreaktion. Entnimmt man jetzt der oberen Flüssigkeitsschicht einen Tropfen, so ergibt sich bei mikroskopischer Untersuchung, daß er keine Bakterien enthält. Außer ganz unbedeutenden anorganischen Verunreinigungen ist in ihm bei Jodjodkaliumfärbung überhaupt nichts zu erkennen. Dagegen zeigt ein aus dem Bodensatze stammendes Präparat ein ganz anderes Bild. Selten sind isolierte Zellen zu beobachten; häufiger zeigen sich jedoch kleine, festumrandete Zooglöen, die schätzungsweise 8—32 Kokken enthalten und maulbeerförmige Gestalt haben, bei der die Kokken die kleinen Teilbeerchen bilden. Zu dieser Zeit gibt die Kultur noch eine starke Ammonikreaktion. Untersucht man nach einigen Tagen den Bodensatz, so ist eine Vermehrung und Vergrößerung der Zooglöen wahrzunehmen. Nach 8—12 Tagen verbreitet sich eine Trübung in der ganzen Flüssigkeit; doch bleibt sie sehr schwach, so daß sie erst bei aufmerksamer Betrachtung sichtbar wird. Die Reaktion auf Ammoniak nach Neßler gibt zu dieser Zeit nur noch schwache Gelbfärbung. Eine Untersuchnng der Magnesiaschicht zeigt, daß sich die Bakterien im ganzen Bodensatz verteilt vorfinden. Die eigenartige Wachstumsform der Kokken in Zooglöen ist nicht mehr anzutreffen. Anstatt der scharf umgrenzten, runden Zooglöen, deren Zellen ohne Zwischenraum aneinander stießen, kommen jetzt zahlreiche einzelne Zellchen zwischen den Magnesiasplitterchen vor. Magnesiateilchen scheinen das Substrat zu sein, auf dem diese Organismen leben. Die Bakterien sind nicht alle von gleicher Gestalt, sondern bald sind sie oval gestreckt, bald fast kugelig. Häufig sind auch bisquitartige Teilungsformen mit einer Einschnürung in der Mitte. Vereinzelte größere Ansammlungen im Bodensatz scheinen Zooglöen zu sein, die in Auflösung begriffen sind; denn am unregelmäßig umgrenzten Rande liegen die Zellen in losem Znsammenhang, während die Mitte der Ansammlung noch ein zooglöenartig dichtes Gefüge hat. In der oberen Flüssigkeitsschicht finden sich jetzt zahlreiche Einzelmikroben, zuweilen bemerkt man darin auch lockere Häufchen von Bakterien.

Zahlreiche Beobachtungen im hängenden Tropfen ließen auch in diesem Stadium keine Eigenbewegung der Kokken erkennen. Nur einmal konnte in einer Ostseeschlickreinkultur, die vor 10 Tagen angesetzt war, ein Schwärmen der Einzelzellen bemerkt werden. Deutlich sah man, wie sich einzelne Bakterien und auch längere Körper, die bisquitförmige Gastalt hatten, durch das Gesichtsfeld des Mikroskops bewegten. Bei den Organismen anderer Herkunft [Gartenerde, Helgoland, Golf von Neapel] ist es mir nicht gelungen, Beweglichkeit festzustellen, trotzdem Einzelbakterien zahlreich im hängenden Tropfen vorhanden waren.

Verstärkt man die Kultur fortwährend durch einige Tropfen einer 10-prozentigen Lösung von Ammoniumsulfat, so kann die schwache Trübung der Nährflüssigkeit andauern und bei mikroskopischer Untersuchung finden sich darin stets zahlreiche Einzelbakterien und Teilungsformen. Wird das Ammoniumsulfat vollständig verbraucht, so tritt nach 3—4 Tagen eine Klärung der Flüssigkeit ein. Dann findet

man im Bodensatz in unregelmäßiger Häufung gelagerte Zellen, die sich von den typischen Zooglöen scharf durch ihre unregelmäßige Umgrenzung und durch ihr lockeres Gefüge unterscheiden. Auch zahlreiche Einzelkokken liegen zerstreut zwischen den Magnesiakriställchen. Die obere klare Flüssigkeitsschicht enthält jetzt keine Bakterien mehr, wie eine erneute mikroskopische Prüfung zeigt.

Überimpft man aus einer solchen schon seit Monaten ruhenden Kultur in sterile Ammoniaknährlösungen, so dauert es selbst unter günstigsten Bedingungen stets einige Tage länger bis Nitrifikation festzustellen ist, als wenn man aus einem lebhaft nitrifizierenden Kolben überimpft. Die Oxydationsenergie der Bakterien scheint durch die lange Untätigkeit geschwächt zu sein. Versetzt man jedoch eine solche alte Kultur mit einigen Tropfen einer 10-prozentigen Ammoniumsulfatlösung, so zeigt sich schon nach 2—3 Tagen wieder die schwache Trübung und durch mikroskopische Untersuchung läßt sich feststellen, daß die Nitritbildner nicht mehr auf die Magnesiaschicht beschränkt sind, sondern sich in der ganzen Nährlösung verteilt haben. Größere Ansammlungen von Kokken sind aus dem Bodensatz verschwunden, höchstens finden sich noch kleine, lockere Bakterienhäufchen an den Magnesiateilchen. So vollzieht sich im allgemeinen die Entwicklung des Nitritbildners.

Während in allen Kulturen Zooglöen vorhanden waren, schienen in manchen Kolben die Einzelbakterien zu fehlen. Es wurden nämlich Zuchten aus dem Schlick der Kieler Föhrde beobachtet, die ausschließlich ein Wachstum in Zooglöen aufwiesen, so daß ein Bodenpräparat aus einer häufig mit Ammoniumsulfat verstärkten Kultur stets und ausschließlich große Mengen der fest umrandeten Zooglöen enthielt. Falls mit Jodjodkalium stark gefärbt wurde, konnte man die Struktur dieser Gebilde nicht erkennen, da sie vollkommen braun und undurchsichtig wurden. Zuweilen bildeten mehrere einzelne Zooglöen wieder einen Komplex. Eine große Anzahl von Organismen mußte in einer solchen Ansammlung vorhanden sein; denn der Durchmesser dieser zwar scharf umgrenzten, jedoch nicht regelmäßig runden Gebilde betrug bis zu 0,4—0,5 mm.

Zu vergleichenden Untersuchungen wurde der Nitritbildner aus Gartenerde, Nordseeschlick aus der Fahrrinne bei Helgoland und aus dem Mud des Neapler Golfes herangezogen. Reinkulturen dieser Spaltpilze verschiedener Herkunft wurden nicht angelegt, sondern man beschränkte sich darauf, einige Umimpfungen der Rohkultur in flüssige Nährlösungen zu machen, dann durch wiederholte Gaben von Ammoniumsulfat eine Kultur anzureichern und auf einer Magnesiagipsplatte ein Tröpfchen auszustreichen. Von den kleinen gelben Kolonien wurde direkt in eine Reihe steriler Kolben beimpft und diese dann zur Untersuchung benutzt. Da nur mit rein anorganischen Nährlösungen gearbeitet wurde, so war nicht zu befürchten, daß der Nitritbildner durch andere Bakterien verdrängt würde. Es zeigten sich auch stets nur winzige Kokken und Stäbchen, die die Untersuchung wenig beeinträchtigten. Die sonst überall verbreiteten Schimmelpilze waren niemals in den Kulturen, ein Beweis, welch ungünstiger Nährboden die Winogradsky'sche Nährlösung für Organismen ist, die der organischen Stoffe bedürfen. Überdies zeigt der Nitritbildner bei Jodjodkaliumfärbung so charakteristische Bilder, daß man ihn auch in einer Rohkultur leicht von anderen Spaltpilzen unterscheiden kann. Daher schließt Winogradsky[1]) eine seiner Publikationen über die Morphologie von Nitrosomonas mit folgenden Sätzen: „Nous avons terminé maintenant la morphologie d'un microbe des plus rudimentaires, dont la cellule est peu caractéristique, qui ne forme pas de spores, ne croît pas sur des milieux variés, etc. Et pourtant, l'observation de son développement nous a révélé des traits si caractéristiques, qu'il appartient désormais aux microbes les plus faciles à reconnaître qui existent."

Vergleicht man die Nitritbildner der eben genannten Örtlichkeiten mit dem in Reinzucht erhaltenen Organismus aus der Ostsee, so kann nur festgestellt werden, daß sie morphologisch vollkommen mit ihm übereinstimmen. Sie gleichen dem von Winogradsky aus Erdproben von Zürich und Gennevilliers isolierten, westeuropäischen Organismus in Größe und Form vollständig. An einzeln liegenden Kokken konnte durch Messungen ermittelt werden, daß in der Größe gar keine Differenzen vorhanden waren. Die Länge betrug 1,2—1,5 μ, die Breite etwa 0,8—1 μ. Zooglöenwachstum war bei allen Kulturen anzutreffen. Gegenüber der Kultur aus Gartenerde wiesen alle Nitritbildner, die aus Schlickproben stammten, schon in der Rohkultur weit weniger verunreinigende Organismen auf, so daß man nach erfolgter Nitrifikation den Nitritbildner sehr leicht auffinden konnte.

Morphologisch waren also keine Abweichungen unter den Bakterien aufzufinden, auch das Ammoniumsulfat wurde von allen mit annähernd gleicher Energie zu salpetrigsauren Salzen oxydiert. Es konnten also höchstens Anpassungserscheinungen der sonst vollständig gleichen Spaltpilze an die verschiedenen Medien in Frage kommen. Das glaubt auch Winogradsky für die verschiedenen Nitritbildner des Festlandes annehmen zu müssen. Durch ausgedehnte Untersuchungen hatte dieser Forscher ermittelt, daß Nitrosomonas im Zooglöenstadium widerstandsfähiger gegen Austrocknung ist als im Monadenstadium. Nun zeigte der Nitritbildner, den Winogradsky aus afrikanischen Erden isolierte, ein auffallend hartnäckiges Zooglöenwachstum. Winogradsky[1]) hielt das für eine Anpassung des Organismus an das trockene Klima Afrikas und gab seiner Vermutung in folgenden Sätzen Ausdruck: „Dans cette question de la propagation des microbes nitreux, il faut encore prendre en considération, qu'en habitant des sols et des climats différents, certaines espèces doivent acquérir certaines adaptations aux conditions purement physiques du milieu. Ceci doit avoir pour résultat qu'une espèce locale se maintient bien dans des conditions, que ne supporte pas une espèce importée. Il est permis, par exemple, de supposer que le caractère exclusivement zoogléique des microbes des terres africaines étudiées pourrait bien être une adaptation à la sécheresse du climat. Au contraire, il est clair, sans plus d'explications, que les monades sont beaucoup mieux adaptées aux conditions, qui règnent dans un sol humide et surtout en même temps riche en matière organique."

Wenn sich auch in der hier vermuteten Hinsicht keine Anpassungserscheinungen auffinden ließen, da die nitrifizierenden Organismen des Salzwassers ebenso typische Zooglöen bildeten, wie sie für die Kokken des Ackerbodens charakteristisch sind, kam für dieses Medium doch eine näherliegende Anpassung in Frage, nämlich die Gewöhnung an den Salzgehalt des Meerwassers. Bei höheren Organismen sind diese Anpassungen ja hinlänglich bekannt und makroskopisch leicht festzustellen; das zeigt ein Blick auf die Tier- und Pflanzenwelt der Nord- und Ostsee. Bei diesen bedeutet ein Schwanken des Salzgehaltes um 2—3 % vielfach schon sicheren Untergang. Für manche Bakterien liegen die Verhältnisse allerdings anders. Das zeigen z. B. die Untersuchungen[8]) von Azotobakter des Festlandes, der sich an 1- bis 8-prozentige Lösungen von Koch- und Seesalz gewöhnen konnte. Daraus durfte geschlossen werden, daß der Nitritbildner vielleicht in verschiedenen Salzkonzentrationen innerhalb gewisser Grenzen gedeihen würde, daß er aber dann wohl in denjenigen Lösungen das stärkste Wachstum besäße, die seinem natürlichen Medium möglichst ähnlich wären. Über die Ergebnisse solcher vergleichenden Kulturversuche soll einer der folgenden Abschnitte berichten.

Nitratbildner.

Da der Nitratbildner erst später aufgefunden wurde, so ist er nicht so eingehend untersucht worden. Zunächst wurde vermutet, daß der Seesalzgehalt des Meeres ihm das Leben im Schlick unmöglich mache; doch zeigten Kulturen mit 1 % und 2 % Seesalz, die mit Erde vom Komposthaufen beimpft waren, daß dies nicht die einzige Ursache seiner Abwesenheit im Salzwasser sein konnte. Gegenüber den Nährlösungen ohne Salzzusatz, verursachte der erwähnte Salzgehalt zwar Verzögerung im Oxydationsprozeß, doch wurde auch hier das Nitrit in Nitrat umgewandelt.

Als sich in den Neapler Kulturen Nitratbildung einstellte, wurden zwei Kolben wiederholt mit einigen Tropfen einer 10-prozentigen Natriumnitritlösung angereichert. Eine Platinöse dieser angereicherten Zuchtflüssigkeit wurde in einen Kolben mit steriler Nährlösung geimpft und dann im Wärmeschrank bis zum Verschwinden des Nitrits aufbewahrt. Durch wiederholtes Zufügen von Natriumnitrit erhielt ich eine an Nitratbildnern reiche, rein anorganische Nährlösung, die Nitrit lebhaft oxydierte. In gleicher Weise wurde Nitrobakter des Festlandes aus Erde vom Komposthaufen in einigen Kulturgefäßen angereichert. In Größe und Färbbarkeit zeigten sich die beiden Organismen vollkommen identisch, wahrscheinlich handelt es sich bei Nitrobakter des Salzwassers einfach um Festlandsbakterien, die vom Lande eingeschwemmt sind. Dafür spricht auch, daß nur dicht am Strande entnommene Proben diesen Mikroben enthalten, während er weiter von der Küste zu fehlen scheint.

Falls sich durch erweiterte Untersuchungen herausstellen sollte, daß diese Ergebnisse allgemeinere Gültigkeit besitzen, so wäre damit vielleicht eine Deutung gewisser Natterer'scher [9]) Resultate möglich. Dieser Forscher konnte nämlich in Wasserproben, die aus größeren Tiefen des Mittelmeeres stammten, nie Salpetersäure, sondern nur salpetrige Säure, allerdings immer in minimalen Mengen, nachweisen.



Verhalten des Nitritbildners in Seesalzlösungen.

Über den Einfluß von Natriumchlorid auf nitrifizierende Organismen sind bis jetzt von Stutzer und Hartleb [10]) einige Mitteilungen gemacht worden. Diese Autoren stellten fest, daß der Nitratbildner in seiner Oxydationsenergie durch Zusätze von 0,25 und 0,50 % Na Cl nicht beeinflußt wird. Sonst scheinen über diesen Punkt in der einschlägigen Literatur keine Angaben vorhanden zu sein. Die Nitrobakterien sind dafür um so eingehender in ihrem Verhalten organischen Nährstoffen gegenüber untersucht worden. Bei den vorliegenden Untersuchungen mußte stets mit Seesalzkonzentrationen gearbeitet werden; es lag daher nahe, diesen Verhältnissen etwas mehr Aufmerksamkeit zu schenken.

Da zuerst ausschließlich der Nitritbildner in den Schlickkulturen festgestellt wurde, so sind auch nur mit diesem Organismus die betreffenden Versuche durchgeführt worden. Reinkulturen wurden nicht dazu benutzt, da sich das Vorhandensein anderer Bakterien in den mineralischen Nährlösungen nicht störend geltend machte.

In den Versuchen von Stutzer und Hartleb stammten die nitrifizierenden Spaltpilze aus dem Erdboden, dessen Bodenflüssigkeit Kochsalz wohl stets nur in geringen Mengen enthält. Dementsprechend sind von ihnen auch nur Zusätze von 0,25—0,50 % Na Cl verwandt worden, die ohne wesentlichen Einfluß blieben. Bei den vorliegenden Untersuchungen enthielten die natürlichen Medien (Ostsee, Mittelmeer, Nordsee) schon 1,5—3,5 % Seesalz, es mußten daher größere Zusätze von Seesalz angewandt werden, um merkliche Differenzen im Verlauf der Nitrifikation herbeizuführen. Der Nitritbildner verschiedener Herkunft ist daher in den Winogradsky'schen Nährlösungen unter Zugabe von 0 bis 5 % Seesalz kultiviert worden. In allen Fällen wurde das käufliche Seesalz verwandt. Das im gewöhnlichen Zustande feuchte Salz wurde bei 70 bis 85° C. 2 bis 3 Stunden lang zwischen Filtrierpapier getrocknet, dann fein verrieben und der fertigen Nährlösung in berechneter Menge zugesetzt.

Ganz allgemein konnte festgestellt werden, daß Nitrosomonas des Salzwassers als Anpassungsform angesehen werden muß. Falls nämlich mit derselben Schlickprobe eine größere Zahl von Kolben beimpft wurde, deren Nährlösungen verschiedenen Salzgehalt aufwiesen, verlief stets dort die Umwandlung des Ammoniaks in Nitrit am schnellsten, wo die Kulturflüssigkeit dem natürlichen Medium möglichst ähnlich war. Abweichungen um 1 % Seesalz von der Konzentration des natürlichen Mediums übten sowohl bei Festlands-, als auch bei Süß- und Salzwasserorganismen stark hemmende Einflüsse aus. Ich verweise auf die Tabellen 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 18.

Bei der Untersuchung der Bakterien in ihrem Verhalten gegenüber Seesalzkonzentrationen können zwei Wege eingeschlagen werden. Man kann das Impfmaterial zuerst in einen Kolben bringen, dessen Nährlösung in ihrem Seesalzgehalt dem natürlichen Medium entspricht und hier durch wiederholte Ammoniumsulfatgaben die Vermehrung des Spaltpilzes fördern. Aus einer solchen lebhaft nitrifizierenden Rohkultur könnten dann Impfungen in eine größere Zahl von Kolben mit verschiedenem Salzgehalt vorgenommen werden. In diesen Tochterkulturen müßte man dann die Oxydationsenergie der Nitritbildner beobachten. Es ließe sich so auch zuerst eine Reinkultur in einer dem natürlichen Medium ähnlichen Nährlösung heranziehen und mit dieser würden dann die Tochterkulturen beimpft. Abgesehen davon, daß dieses Verfahren zeitraubend ist, bietet es durchaus keine Gewähr für die Richtigkeit der erlangten Resultate; denn der Nitritbildner kann durch lange fortgesetzte künstliche Zucht seine natürlichen Eigenschaften vollkommen verändern. Daher ist auch in den meisten Fällen eine andere Methode zur Anwendung gelangt, die schneller und zuverlässiger Ergebnisse liefert und zugleich ein sehr gutes Mittel darstellt, die Frage zu beantworten, ob die Bakterien wirklich aus dem vermuteten Medium stammen. Man bringt von dem Impfmaterial (Schlick) stets eine möglichst gleiche Menge [1—3 Platinösen] in eine größere Anzahl Kolben, die Nährlösungen von verschiedenem Salzgehalt haben. Enthält das Impfmaterial wirklich

Organismen von der Stelle, wo die Probe entnommen worden ist, so muß theoretisch die Nitrifikation in denjenigen Nährlösungen am schnellsten einsetzen, welche in ihrer Zusammensetzung dem natürlichen Medium am meisten entsprechen. Dies war tatsächlich der Fall, wie ein Blick auf die Tabellen 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 18 zeigt. Voraussetzung ist selbstverständlich, daß alle Kulturen unter gleichen Bedingungen (Temperatur, Beleuchtung) aufbewahrt werden.

Eine sehr erwünschte Kontrolle lieferte diese Methode z. B. bei dem Schlick, der verschiedenen Stellen des Golfes von Neapel entnommen war. Diese Grundproben stammten aus Tiefen von 20, 30, 50 und 100 m; die Entfernung vom Ufer war 500, 700, 1000 und 2000 m. Das Material hätte durch Festlandsorganismen verunreinigt sein können. Mit je zwei Platinösen dieses Schlicks wurden eine größere Anzahl Kolben beimpft. Die Nährlösung hatte in allen die gleiche Zusammensetzung. In der ersten Kulturreihe war 1,5 %, in der zweiten 3 % und in der dritten 5 % Seesalz zugesetzt worden. Da der Salzgehalt des Neapler Golfes etwa 3—3,5 % beträgt, war zu erwarten, daß die Nährlösung mit 3 % Salzgehalt Nitrosomonas am besten zusagen würde. Diese Kulturen gaben nach 19 Tagen starke Nitritreaktion. Zu jener Zeit war in den Nährlösungen mit 1,5 % und 5 % Seesalz noch kein Nitrit vorhanden. Eine starke Reaktion nach Trommsdorff trat hier erst auf, als die ersten Kolben schon alles Ammoniumsulfat in Nitrit verwandelt hatten, nämlich nach 40 Tagen. Näheres zeigt Tabelle 1.

Wie aus vorstehenden Angaben ersichtlich ist, hatten Differenzen des Seesalzgehaltes um etwa 1,5 % genügt, die Nitritbildung um mehr als die doppelte Zeit zu verzögern. Da alle Kolben im gleichen Raum, bei gleicher Temperatur standen, so können die erwähnten Differenzen nur durch den verschiedenen Seesalzgehalt hervorgerufen sein. Das beobachtete Verhalten der nitrifizierenden Organismen läßt es ausgeschlossen erscheinen, daß der verwendete Schlick durch Bakterien aus dem Ackerboden verunreinigt worden ist.

Analog verhielten sich auch die Nitritbildner des Festlandes, der Süßwasserseen und der Ostsee. Hier waren die Grenzen des überhaupt zulässigen Seesalzgehaltes enger gezogen. Bei den Festlands- und Süßwasserbakterien zeigten sich schon sehr starke Hemmungen bei 1 % Seesalzgehalt, bei den Organismen aus der Ostsee, deren natürliches Medium 1,5—2 % Seesalz enthält riefen 3—3,5 % eine große Verzögerung im Nitrifikationsprozeß hervor. Bei 5 % konnte hier in Rohkulturen überhaupt keine Nitrifikation festgestellt werden. Näheres darüber ist in den Tabellen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 18.

Länger fortgezüchtete Nitrosomonaskulturen aus der Kieler Bucht ließen sich durch mehrmalige Überimpfung auch an Lösungen mit höherem Seesalzgehalt anpassen. Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß man durch wiederholte Überimpfung von Nitritbildnerkulturen des Ackerbodens in Nährlösungen mit immer höheren Salzkonzentrationen, diese an Kulturflüssigkeiten gewöhnen kann, die den in der Natur vorkommenden Organismus dauernd in seiner Wirksamkeit gelähmt hätten, doch sind Versuche dieser Art nicht angestellt worden.

Über den Einfluß der Temperatur auf die Nitrifikation.

Bekanntlich besitzen auf dem Festlande die niederen Breiten einen weit größeren Reichtum an Lebewesen pflanzlicher und tierischer Natur als die kälteren nördlichen Gegenden. Wenn auch im Meere die Temperaturgegensätze nicht in so scharfer Weise wie auf den Kontinenten ausgeprägt sind, so ist es doch eine überraschende Tatsache, daß die kälteren Ozeane eine üppigere Organismenentwickelung aufweisen als die Wasserbecken wärmerer Zonen; d. h. in ihrem Verhalten zur organischen Natur nehmen Meer und Festland geradezu eine entgegengesetzte Stellung ein.

Brandt[4]) glaubt diese Sachlage zum Teil darauf zurückführen zu müssen, daß in den niederen Breiten durch die Tätigkeit der durch Baur[11]), Gazert[7]) und Gran[12]) überall nachgewiesenen denitrifizierenden Bakterien die Stickstoffverbindungen des Meeres zerstört würden und als gasförmiger Stickstoff in die Atmosphäre entwichen. Da bei den denitrifizierenden Bakterien die Intensität des Zersetzungsprozesses wesentlich von der Temperatur abhängig ist, so nimmt Brandt an, daß diese Lebewesen in höheren Breiten den Abbau der Stickstoffverbindungen nicht in so hohem Grade bewirken wie in den Tropen. Daher soll sich in den gemäßigten und kalten Zonen jener Mangel an lebenswichtigen Stickstoffverbindungen

(Nitrite und Nitrate) nicht in so hemmender Weise geltend machen, wie in den wärmeren Meeren. Brandt geht dabei von der Annahme aus, daß im Meere überall neben der Denitrifikation Nitrifikation einhergeht, welche die Ammoniumverbindungen, die aus den verfaulten Organismen herrühren, zu salpeter- und salpetrigsauren Salzen oxydiert.

Bis jetzt sind die Nitrobakterien nur im Meeresboden der Küstengegenden aufgefunden worden; ob sie im freien Meere allgemeine Verbreitung besitzen ist noch eine offene Frage, die durch geeignete Versuchsanstellungen beantwortet werden muß. Falls sie bejaht wird, müßten die nitrifizierenden Organismen des Salzwassers ein abweichendes Verhalten gegenüber höheren Temperaturen besitzen, als die betreffenden Spaltpilze des Festlandes, um für den Stoffwechsel der kälteren Regionen Bedeutung zu haben. Die Nitrobakterien des Ackerbodens sind nämlich sehr wärmeliebend; auf das Meer übertragen, bedeutet das, in höheren Breiten, in denen die Bodentemperatur selten über 10° hinausgeht, würde eine sehr geringe Nitrifikation stattfinden, die der trägen Denitrifikation parallel geht. In wärmeren Gewässern ist bei dieser Sachlage den Nitrobakterien durchaus keine günstige Einwirkung auf den Organismenbestand zuzuschreiben, im Gegenteil, in den Tropen könnten sie durch Umwandlung der bei der Fäulnis auftretenden Ammoniumverbindungen in Nitrite und Nitrate diese indirekt der Denitrifikation ausliefern, während in den kälteren Zonen die durch sie bedingten Stoffumsetzungen nur minimale wären. Hier ständen den Pflanzen sowohl die vom Lande eingeschwemmten salpeter- und salpetrigsauren Salze als auch die durch Fäulnis organischer Reste entstehenden Ammoniumverbindungen zur Verfügung, welche theoretisch in den wärmeren Gewässern den denitrifizierenden Organismen anheimfallen.

Ich habe diese Ausführungen vorangesetzt, um zu zeigen, daß diesen Fragen ein allgemeineres Interesse innewohnt, nicht nur in bezug auf die Physiologie der Nitrobakterien, sondern vielleicht hinsichtlich des gesamten Stoffwechsels im Meere.

Tatsächlich haben mir meine Arbeiten mit den nitrifizierenden Spaltpilzen aus den Küstengewässern gezeigt, daß diese bis auf die Anpassung an die Seesalzkonzentration ihres Mediums mit den Festlandsorganismen identisch sind. Daher wirken auch auf sie höhere Temperaturen äußerst günstig ein. Bevor ich darauf näher eingehe, möchte ich die Beobachtungen, die man bei den Nitrobakterien des Ackerbodens in dieser Beziehung gemacht hat, kurz erwähnen.

Über die große Empfindlichkeit der Nitrobakterien gegenüber niederen Wärmegraden, finden sich in der Literatur schon aus frühester Zeit, ehe die Natur des Nitrifikationsprozesses richtig erkannt war, einige Angaben. Trotzdem diese Daten an Rohkulturen ermittelt wurden, stimmen sie sehr gut mit den späteren, exakten Beobachtungen Stutzer's überein, die dieser an Reinkulturen machte. „Schloesing und Müntz[13]) geben in den „Comptes rend. de l'Acad. 1879, Bd. 89“ die Temperaturen an, welche die Bildung von Nitraten entweder begünstigen oder aber hemmen. Bei 5° C ist der Prozeß kaum merklich, bei 12° schon gut merklich, bei 37° ist die höchste Wirkung zu verzeichnen, bei 45° wird schon Hemmung bemerkbar, bei 55° Stillstand“.

In diesen Kulturen waren sicher sowohl Nitrosomonas als auch Nitrobakter vorhanden; dagegen enthielten die Reinkulturen Stutzer's nur den Nitratbildner. Stutzer[14]) schreibt darüber: „Auf die Wirkung des Nitratbildners hat die Temperatur einen großen Einfluß. Das Optimum liegt bei ungefähr 35°. Beträgt die Temperatur weniger als 15°, so wird die Nitratbildung erheblich verzögert. Ich teile folgende Zahlen mit. Die Versuche sind unter völlig gleichen Bedingungen ausgeführt, mit Ausnahme der Temperatur, welche verschieden war. Durch eine Erwärmung auf 50° während 24 Stunden waren die Organismen getötet.

War die Wärme	so fand die Oxydation nach Verlauf
35°	von 2 Tagen statt
30—25°	„ 4—5 Tagen statt
20—15°	„ 8—10 „ „
15—10°	„ 3—4 Wochen statt.
10—1°.	Befund: Nach 4 Wochen hatte

keine Oxydation stattgefunden, die Organismen blieben aber lebensfähig und oxydierten, sobald die Kulturen warm gestellt wurden. Bei weiteren Versuchen wurden flüssige Kulturen einer Temperatur von minus 10—12° ausgesetzt, dann 24 Stunden lang bei einer nur wenig über 0° liegenden Temperatur belassen und allmählich erwärmt, schließlich bis auf 35°. Die Organismen waren in ihrer Wirkung ungeschwächt geblieben."

Während also Schloesing und Müntz das Optimum für den Nitrifikationsprozeß bei 37° angeben, hat Stutzer es bei 35° ermittelt. Schloesing und Müntz stellen bei 55° Stillstand fest; Stutzer gibt an, daß die Organismen nach 24stündiger Erwärmung auf 50° getötet waren. Ebenso weisen beide Autoren auf die starke Hemmung hin, die der Prozeß erfährt, sobald die Temperatur auf 10—15° gesunken ist. Stutzer belegt das auch mit genauen Daten, wie aus den mitgeteilten Angaben ersichtlich ist. Solange die Nitrobakterien des Salzwassers nicht näher untersucht waren, konnte man annehmen, daß es sich hier vielleicht um Spaltpilze handelte, die von den Bakterien des Ackerbodens abweichende Eigenschaften besäßen. Um in gemäßigten Zonen große Umsetzungen hervorzurufen, hätten sie schon bei 0—10° lebhaft nitrifizieren müssen. Falls die Organismen nur im Meeresboden vorhanden sind, würde ihnen in größeren Tiefen wohl nie eine höhere Temperatur zugänglich sein.

Nach meinen Untersuchungen scheint das nicht der Fall zu sein. Der Nitritbildner des Salzwassers verhielt sich verschiedenen Temperaturen gegenüber wie der betreffende Spaltpilz aus dem Ackerboden. Er zeigte starke Hemmungserscheinungen, wenn die Temperatur sich um etwa 10° von der des Thermostaten entfernte, die 28° C betrug. Besondere Kulturreihen sind für diese Beobachtungen nicht angesetzt worden, die ermittelten Resultate sind gelegentlich anderer Versuchsanstellungen gewonnen.

Ganz allgemein muß wohl überhaupt der langsame Verlauf des Nitrifikationsprozesses in meinen Kulturen auf die recht ungünstigen Temperaturverhältnisse zurückgeführt werden, wie dies mehrfach angestellte Parallelversuche mit dem Thermostaten vermuten lassen. Wie in den Tabellen näher angegeben ist, standen die meisten Kulturreihen im Zimmer bei 15—25° C.

In Tabelle 6 hat z. B. die niedrige Temperatur des Zimmers eine außerordentlich starke Hemmung hervorgebracht. Die Mutterkultur hatte im Wärmeschrank bei 28° C gestanden und war wiederholt mit einigen Tropfen einer 10prozentigen Lösung von Ammoniumsulfat angereichert worden, die stets in wenigen Tagen zu Nitrit oxydiert waren. Der hemmende Einfluß der niedrigeren Temperatur macht sich in den Tochterkulturen ausgesprochen geltend. Während die Kolben im Wärmeschrank schon nach 2—5 Tagen eine starke Nitritreaktion ergaben, trat diese im Zimmer erst nach 20—23 Tagen ein. Die ersten Kulturen mit Schlick aus dem Golf von Neapel (3,3 % Seesalz) gaben im Wärmeschrank (28°) nach 14 Tagen die erste starke Nitritreaktion. Bei der zweiten Sendung wurden Kulturen von fast gleichem Seesalzgehalt (3 %) im Zimmer (20—25°) aufbewahrt. Diese zeigten nach 19 Tagen intensive Bläuung nach Trommsdorff. Die beobachtete Verzögerung in der zweiten Kulturreihe möchte ich der tieferen Temperatur zuschreiben, da die sonstigen Bedingungen annähernd gleich waren.

Auch bei den Plattenkulturen, die zur Züchtung des Nitritbildners benutzt wurden, zeigte sich der fördernde Einfluß der Wärme. Während die Platten im Thermostaten schon nach wenigen Tagen starke Nitritreaktion ergaben und in 4—8 Tagen deutliche gelbe Kolonien auf den Impfstrichen erkennen ließen, zeigten die Petri-Schalen im Zimmer erst weit später eine Bläuung mit dem Reagens von Trommsdorff. Wenn endlich gelbe Kolonien auf den Platten sichtbar wurden, konnte man stets Verunreinigungen der Nitritbildner durch andere kleine Kokken und Stäbchen feststellen, die in der langen Zeit (2—4 Wochen) ihren Weg in die Schalen gefunden hatten.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

I. Der Nitritbildner konnte in allen vom Grunde der Kieler Föhrde entnommenen Bodenproben aufgefunden werden, nicht aber im Seewasser, im Plankton oder auf festsitzenden Algen. Auch in einer Grundprobe aus der Fahrrinne bei Helgoland sowie in sämtlichen untersuchten Schlickproben aus dem Golfe von Neapel war er nachzuweisen.

II. Der Nitratbildner konnte im Gegensatz dazu in Grundproben aus der See nur dann gefunden werden, wenn dieselben aus größter Nähe des Landes stammten.

III. In morphologischer Hinsicht zeigten Nitrosomonas und Nitrobakter aus dem Salzwasser keinen Unterschied gegenüber den von Winogradsky aus dem westeuropäischen Ackerboden isolierten Formen.

IV. In physiologischer Beziehung ist der im Salzwasser lebende Nitritbildner eine Anpassungsform an den Seesalzgehalt seines natürlichen Standortes. Abweichungen von diesem Gehalt nach oben oder nach unten verlangsamen seine oxydierende Wirksamkeit.

V. Der Nitritbildner des Salzwassers ist ebenso wärmeliebend wie die Nitrobakterien des Ackerbodens.

Tabellen.

Da für die meisten Kulturreihen nur zwei Nährlösungen verwandt worden sind, möchte ich deren Zusammensetzung, um Wiederholungen zu vermeiden, hier angeben.

Nährlösung I [Nitritbildner n. Winogradsky].

Ammoniumsulfat	2—2,5 g
Dikaliumphosphat	1 g
Magnesiumsulfat	0,5 g
Chlorcalcium	Spuren
Destill. Wasser	1 l

Basisch kohlensaure Magnesia im Überschuß.

Nährlösung II [Nitratbildner n. Winogradsky].

Natriumnitrit	1 g
Dikaliumphosphat	0,5 g
Magnesiumsulfat	0,3 g
Natriumchlorid	0,5 g
Ferrosulfat	0,4 g
Destill. Wasser	1 l

Basisch kohlensaure Magnesia im Überschuß.

Tabelle 1. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **I.**

Impfmaterial: Schlick aus dem Golf von Neapel, erhalten am 31. Oktober 1906.

Zahl der Kulturen	Impftermin	Seesalzgehalt	Der Schlick stammte aus	Menge des Impfschlicks	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Ammoniak vollständig in Nitrit verwandelt
2	1. Novemb.	1,5 %	20 m Tiefe	2 Platinösen	10. Dezemb.	39	18. Dezember
2	"	"	30 m "	"	"	39	"
1	"	"	50 m "	"	"	39 [1])	"
1	"	"	100 m "	"	"	39 [1])	"
3	1. Novemb.	3 %	20 m Tiefe	2 Platinösen	20. Novemb.	19	5. Dezember
3	"	"	30 m "	"	"	19	7. Dezember
3	"	"	50 m "	"	"	19	"
3	"	"	100 m "	"	"	19	"
2	1. Novemb.	5 %	20 m Tiefe	2 Platinösen	13. Dezemb.	42	Am 18. Dezember noch Ammoniak vorhanden; dann beseitigt.
2	"	"	30 m "	"	"	42	
2	"	"	50 m "	"	"	42	
2	"	"	100 m "	"	"	42	

Anm.: Sämtliche Kulturen wurden im Zimmer in einem bedeckten Kasten aufbewahrt. Die Temperatur betrug am Tage 20—25° C; in der Nacht etwas weniger.

[1]) Je eine Kultur aus 50 und 100 m Tiefe mit 1,5 % Seesalzgehalt hat auch nach Monaten keine Nitritreaktion ergeben.

Tabelle 2a. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Schlick, gefischt zwischen Friedrichsort und Laboe im Fahrwasser von 15 m Tiefe, am 18. Juli 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrit verwandelt	Tage	
6	19. Juli	1,7 %	2 Platinösen	16. Oktober	89	
4	„	3,3 %	„	„	89	
4	„	5 %	„	—	—	Bis zum 16. Oktober kein Nitrit gebildet, Ammoniak noch vorhanden; dann beseitigt.
4	„	0 %	„	—	—	

Anm.: Mit Ausnahme der 4 Kolben mit 5 % Seesalzgehalt, die im Wärmeschrank bei 28° gestanden hatten, waren die Kulturen alle im Zimmer bei 18—25° C unter vollständig gleichen Verhältnissen aufbewahrt worden. Erst nach Ablauf des ganzen Prozesses am 16. Oktober wurde das obige Resultat durch Tüpfelreaktionen ermittelt.

Tabelle 2b. Kulturflüssigkeit: Nährlösung II.

Impfmaterial: Schlick, gefischt zwischen Friedrichsort und Laboe im Fahrwasser von 15 m Tiefe, am 18. Juli 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Nitrit verschwunden, in Nitrat umgewandelt	Tage	
5	19. Juli	0 %	2 Platinösen	—	—	Am 16. Oktober noch tiefschwarze Nitritreaktion. Nach Piccini kein Nitrat vorhanden.
5	„	1,7 %	„	—	—	

Anm.: Die Kulturen mit 1,7 % Seesalzgehalt standen im Wärmeschrank bei 28°, die Kolben mit 0 % Seesalz standen im Zimmer bei 18—25° C.

Tabelle 3. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Eine stark nitrifizierende Rohkultur (1,5 % Seesalz), beimpft am 3. März 1906 mit Schlick aus der Kieler Föhrde zwischen Friedrichsort und Laboe.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
2	29. Juni	1,7 %	2 Platinösen	7. Juli	8	Zimmer	18—24°
4	„	3,3 %	„	18. „	19	„	18—24°

Tabelle 4. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Erde vom Komposthaufen, entnommen am 29. Juni 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
2	29. Juni	0 %	1 ccm	9. Juli	10	Zimmer	18—24°
4	„	3,3 %	1 „	—	—	„	18—24°

Anm.: Die Erdkulturen mit 3,3 % Seesalz wiesen nach 6 Wochen noch kein Nitrit auf.

Tabelle 5. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Erde vom Komposthaufen, entnommen am 26. Oktober 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Ammoniak vollständig in Nitrit verwandelt	Tage
4	26. Oktober	0 %	4 Platinösen	5. November	10	10. November	15
4	„	1,5 %	„	23. „	28	7. Dezember	42

Anm.: Temperatur im Zimmer, wo die Kolben standen, 18—24°; Nachts kälter.

Tabelle 6. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Eine stark nitrifizierende Rohkultur (1,5 % Seesalz), beimpft am 3. März 1906 mit Schlick aus der Kieler Föhrde zwischen Friedrichsort und Laboe.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
2	25. Mai	0 %	1 Platinöse	—	—	Zimmer	16—22°
2	„	1 %	„	15. Juni	20	„	16—22°
2	„	2 %	„	15. „	20	„	16—22°
2	„	3 %	„	18. „	23	„	16—22°
2	„	4 %	„	—	—	„	16—22°
2	25. Mai	0 %	1 Platinöse	—	—	Wärmeschrank	28°
2	„	1 %	„	27. Mai	2	„	28°
2	„	2 %	„	27. „	2	„	28°
2	„	3 %	„	30. „	5	„	28°
2	„	4 %	„	—	—	„	28°

Anm.: Die Mutterkultur vom 3. März war mit 1,5 % Seesalz angesetzt worden. Während zwischen den Kulturen mit 1 und 2 % Seesalz im weiteren Verlauf der Nitrifikation keine Unterschiede beobachtet werden konnten, zeigte sich bei der Nährlösung mit 3 % eine wesentliche Verzögerung. Während nämlich die Kulturen mit 1 und 2 % Seesalz im Wärmeschrank ihr Ammoniumsulfat schon am 8. Juni vollständig in Nitrit verwandelt hatten, war dies bei den Kolben mit 3 % am 22. Juni noch nicht der Fall. Bei den Kulturen mit 0 und 4 % konnte überhaupt keine Nitritbildung konstatiert werden.

Tabelle 7. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Eine stark nitrifizierende Rohkultur (0 % Seesalz), beimpft mit Erde vom Komposthaufen, aufbewahrt im Wärmeschrank bei 28°.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
2	25. Mai	0 %	1 Platinöse	12. Juni	17	Zimmer	16—22°
2	„	1 %	„	19. „	24	„	16—22°
2	„	2 %	„	18. Juli	53	„	16—22°
2	„	3 %	„	—	—	„	16—22°
2	„	4 %	„	—	—	„	16—22°

Anm.: Da die Kulturen im Zimmer standen, ging die Nitrifikation sehr langsam vor sich. Selbst nach 70 Tagen zeigte sich in den Kolben mit 3 und 4 % Seesalz keine Nitritbildung.

Tabelle 8. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **II.**

Impfmaterial: Erde vom Komposthaufen des botanischen Gartens. 26. Oktober 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Verschwinden der Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
4	26. Oktober	0 %	1 ccm	6. November	11	Zimmer	18—24 °
4	„	1,5 %	1 „	15. „	20	„	18—24 °

Anm.: Nach dem Verschwinden der Nitritreaktion wurde das entstandene Nitrat durch Diphenylamin-Schwefelsäure nachgewiesen.

Tabelle 9. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **II.**

Impfmaterial: Schlick aus dem Schreventeich. 26. Oktober 1906.

Zahl der Kulturen	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Verschwinden der Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
4	26. Oktober	0 %	3 Platinösen	21. November	26	Zimmer	18—24 °
4	„	1,5 %	„	—	—	„	18—24 ° [1])

Impfmaterial: Schlick aus dem Schulensee. 26. Oktober 1906.

Zahl der Kulturen	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Verschwinden der Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
4	26. Oktober	0 %	3 Platinösen	25. November	30	Zimmer	18—24 °
4	„	1,5 %	„	—	—	„	18—24 ° [1])

Anm.: Nach dem Verschwinden der Nitritreaktion wurde das entstandene Nitrat durch Diphenylamin-Schwefelsäure nachgewiesen.

Tabelle 10a. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **II.**

Impfmaterial:
- I. Schlick, gefischt am 1. August bei der „Glockenboje“ [Außenföhrde], in 17 m Tiefe.
- II. Schlick, gefischt am 1. August seitlich von Boje „C“ [Außenföhrde], in 16 m Tiefe.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Verschwinden der Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
I. 4	2. August	1,7 %	3 Platinösen	—	—	Zimmer	15—25 °
II. 4	„	1,7 %	„	—	—	„	15—25 °

Anm.: Bei der Untersuchung am 16. Oktober zeigten alle Kulturen tiefschwarze Nitritreaktion, Nitrat war nicht gebildet worden.

[1]) Am 28. Januar 1907 noch Nitrit vorhanden, starke Reaktion nach Trommsdorff.

Tabelle 10b. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **I.**

Impfmaterial: Schlick, gefischt am 1. August bei der „Glockenboje" [Außenföhrde], in 17 m Tiefe.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrit umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
4	2. August	1,7 %	3 Platinösen	16. Oktober	75	Zimmer	15—25 °

Impfmaterial: Schlick, gefischt am 1. August seitlich von Boje „C" [Außenföhrde], in 16 m Tiefe.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrit umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
4	2. August	1,7 %	3 Platinösen	16. Oktober	75	Zimmer	15—25 °

Anm.: Ich habe den Verlauf der Nitrifikation nicht näher verfolgt. Bei der Untersuchung am 16. Oktober zeigten alle Kulturen tiefschwarze Nitritreaktion; Ammoniak war nicht mehr vorhanden.

Tabelle 11. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **I.**

Impfmaterial: Angeschwemmtes Seegras vom Strand zwischen Friedrichsort und Schilksee.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrit umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
4	22. Dezember	1,7 %	Einige Blätter von *Zostera marina*	21. Januar	30	Zimmer	18—24 °

Tabelle 12. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **II.**

Impfmaterial: Angeschwemmtes Seegras vom Strand zwischen Friedrichsort und Schilksee.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Nitrit verschwund., vollständig in Nitrat umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
4	22. Dezember	1,7 %	Einige Blätter von *Zostera marina*	15. Januar	24	Zimmer	18—24 °

Tabelle 13a. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **I.**

Impfmaterial: Sandproben vom Strande zwischen Friedrichsort und Schilksee. 21. Dezember 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalz-gehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrit umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
I 3	22. Dezember	1,7 %	2 ccm	29. Januar 1907	37	Zimmer	18—24 °
II 3	"	1,7 %	2 "	"	37	"	18—24 °
III 3	"	1,7 %	2 "	"	37	"	18—24 °

Tabelle 13b. Kulturflüssigkeit: Nährlösung II.

Impfmaterial: Sandproben vom Strande zwischen Friedrichsort und Schilksee. 21. Dezember 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Nitrit vollständig in Nitrat umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
I 3	22. Dezember	1,7 %	2 ccm	29. Januar 1907	37	Zimmer	18—24°
II 3	„	1,7 %	2 „	„	37	„	18—24°
III 3	„	1,7 %	2 „	„	37	„	18—24°

Anm.: Der Strand war an der Stelle, wo die Sandproben entnommen wurden, auf eine breite Zone hin vollständig vegetationslos. Probe I war aus 10 cm Tiefe etwa 15 m vom Ufer dem Strandsand entnommen worden. Probe II entstammte der Wassergrenze und hatte grobkörnige, kiesige Beschaffenheit; Probe III stammte aus 0,75 m Wassertiefe und war feinkörniger. Durch andere Arbeiten war ich verhindert, den Verlauf der Nitrifikation näher zu verfolgen. Bei der Untersuchung am 29. Januar 1907 erhielt ich die in den Tabellen erwähnten Resultate.

Tabelle 14a. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Erde vom Komposthaufen des botanischen Gartens. 3. August 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrat verwandelt	Tage	Standort	Temperatur
5	3. August	0 %	2 ccm	16. Oktober	74	Zimmer	15—25°

Tabelle 14b. Kulturflüssigkeit: Nährlösung n. Nathansohn.

Zusammensetzung: Ammoniumchlorid: 1 g
Brunnenwasser: 1 l
Basisch kohlensaure Magnesia im Überschuß.

Impfmaterial: Erde vom Komposthaufen des botanischen Gartens. 3. August 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrat verwandelt	Tage	Standort	Temperatur
5	3. August	0 %	2 ccm	—	—	Zimmer	15—25°

Anm.: Diese beiden Kulturreihen hatten im gleichen Raum unter gleichen Bedingungen gestanden. Erst am 16. Oktober nahm ich eine Prüfung der Kolben vor. Es zeigte sich, daß die Nährlösung nach Nathansohn trotz der reichlichen Mengen Impfmaterial stark verzögernd gewirkt hatte. Während nämlich die erste Reihe [Winogradsky] weder Ammoniak noch Nitrit besaß, sondern nur eine starke Reaktion auf Nitrat mit Diphenylamin-Schwefelsäure gab, zeigte sich in den Kolben der zweiten Kulturreihe [Nathansohn] noch überall Ammoniak [Neßler]; doch war in allen Fällen eine starke Nitritreaktion zu beobachten.

Tabelle 15a. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Zwei Schlickproben aus der Wittlingskuhle im Kieler Hafen [100—200 m vom Lande].

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Ammoniak vollständig in Nitrit umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
I 5	7. Dezember	1,7 %	2 ccm	11. Januar	34	Zimmer	18—24°
II 4	„	1,7 %	„	„	34	„	18—24°

Tabelle 15b. Kulturflüssigkeit: Nährlösung II.

Impfmaterial: Zwei Schlickproben aus der Wittlingskuhle im Kieler Hafen [100—200 m vom Lande].

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Nitrit vollständig in Nitrat umgewandelt	Tage	Standort	Temperatur
I 5	7. Dezember	1,7 %	2 ccm	11. Januar	34	Zimmer	18—24 °
I 3	„	0 %	„	„	34	„	18—24 °
II 3	„	1,7 %	„	„	34	„	18—24 °
II 3	„	0 %	„	„	34	„	18—24 °

Anm.: Schlickprobe I stammte aus 20 m Tiefe; Schlickprobe II aus 15 m Tiefe. Bei der ersten Untersuchung der Kulturen am 1. November zeigte sich das oben mitgeteilte Ergebnis.

Tabelle 16. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Schlickproben aus dem Golf von Neapel, erhalten am 7. Juni 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Der Schlick stammte aus	Menge des Impfmaterials	Standort	Temperatur	Erste starke Nitritreaktion	Tage
2	12. Juni	3,3 %	20 m Tiefe	2 Platinösen	Wärmeschrank	28 °	26. Juni	14
2	„	3,3 %	30 „ „	„	„	28 °	„	14
2	„	3,3 %	50 „ „	„	„	28 °	„	14
2	„	3,3 %	100 „ „	„	„	28 °	28. Juni	16

Tabelle 17. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Schlick aus der Fahrrinne südlich von Helgoland, erhalten am 7. Juni 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Der Schlick stammte aus	Menge des Impfmaterials	Standort	Temperatur	Erste starke Nitritreaktion	Tage
2[1])	12. Juni	3,3 %	Fahrrinne	2 Platinösen	Wärmeschrank	28 °	20. Juli	38

Der Schlick von Helgoland und von Neapel war schon am 7. Juni in Kiel angelangt. Da ich in diesen Tagen abwesend war, hatte Herr Professor Benecke das Material bis zu meiner Rückkehr in einem kühlen Raum, vor Infektion geschützt, aufbewahrt. Er impfte jedoch schon am 8. Juni eine größere Anzahl Kolben damit. Auch sterilisierte Kulturen wurden zur Kontrolle im gleichen Raum aufbewahrt. Da die Helgoländer Kulturen zu denselben Ergebnissen wie die meinigen führten, möchte ich davon absehen, eine Tabelle darüber mitzuteilen. Bei den Neapler Kulturen war als Lösungsmittel der Nährsalze nicht destilliertes Wasser, sondern Nord- resp. Ostseewasser verwandt worden. Da diese Kulturen auch deutlich die ungünstige Einwirkung des Ostseewassers erkennen lassen, dessen Salzgehalt nur 1,5—2 % beträgt, habe ich die Ergebnisse in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Zugleich bilden diese Resultate eine sehr erwünschte Kontrolle der in „Tabelle 1" mitgeteilten Befunde.

[1]) In einer der drei Helgoländer Kulturen bildete sich kein Nitrit, diese zeigte selbst nach Monaten nur Ammoniakreaktion nach Neßler.

Tabelle 18. Kulturflüssigkeit: Nährlösung I.

Impfmaterial: Schlickproben aus dem Golf von Neapel, erhalten am 7. Juni 1906; zur Impfung verwandt durch Herrn Professor Benecke am 8. Juni 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Lösungsmittel	Der Schlick stammte aus	Standort	Temperatur	Erste starke Nitritreaktion	Tage
2	8. Juni	Ostseewasser	20 m Tiefe	Zimmer	15—25°	12. Juli	34
2	„	„	30 „ „	„	15—25°	21. „	43
2	„	„	50 „ „	„	15—25°	17. „	39
2	„	„	100 „ „	„	15—25°	—	—
2	8. Juni	Nordseewasser	20 m Tiefe	Zimmer	15—25°	26. Juni	18
2	„	„	30 „ „	„	15—25°	1. Juli	23
2	„	„	50 „ „	„	15—25°	1. „	23
2	„	„	100 „ „	„	15—25°	29. Juni	21

Anm.: Alle sterilisierten Parallelkulturen ergaben bis zum 16. Oktober keine Nitritreaktion. Bis zu jener Zeit zeigte sich auch in den beiden mit Schlick aus 100 m Tiefe beimpften Kolben mit Ostseewasser weder Nitrit noch Nitrat. Die Hälfte sämtlicher Kulturen hatte einen Zusatz von 0,04% Eisenoxydulsulfat erhalten; doch schien dieser Zusatz ohne Einfluß zu sein. Bekanntlich sind im Seewasser stets Eisensalze enthalten, die dem Nitritbildner genügen dürften, so daß darin die Ursache für die anscheinende Unwirksamkeit des künstlichen Eisenzusatzes zu finden ist.

Tabelle 19. Kulturflüssigkeit: Nährlösung II.

Impfmaterial: Schlickproben aus dem Golf von Neapel, erhalten am 31. Oktober 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Der Schlick stammte aus	Menge des Impfmaterials	Standort	Temperatur	Nitrit vollständig in Nitrat umgewandelt	Tage
3	1. Novemb.	3%	20 m Tiefe	2 Platinösen	Zimmer	20—25°	18. Dezember	47
3	„	3%	30 „ „	„	„	20—25°	—	—
3	„	3%	50 „ „	„	„	20—25°	—	—
3	„	3%	100 „ „	„	„	20—25°	—	—

Anm.: Mit Ausnahme der drei Kolben, beimpft mit Schlick aus 20 m Tiefe, verschwand nirgends das Nitrit. Nach 3½ Monaten wurden die sterilen Kulturen beseitigt.

Tabelle 20. Kulturflüssigkeit: Nährlösung n. Nathansohn.

Zusammensetzung: Ammoniumchlorid 1 g
Destilliertes Wasser 1 l
Basisch kohlensaure Magnesia im Überschuß.

Impfmaterial: Schlickproben aus dem Golf von Neapel, erhalten am 31. Oktober 1906.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Der Schlick stammte aus	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Ammoniak vollständig in Nitrit verwandelt	Tage
3	1. Novemb.	3%	20 m Tiefe	2 Platinösen	5. Dezember	34	11. Dezember	40
3	„	3%	30 „ „	„	9. „	38	15. „	44
3	„	3%	50 „ „	„	9. „	38	15. „	44
3	„	3%	100 „ „	„	9. „	38	15. „	44

Anm.: Diese Kulturen wurden unter denselben Bedingungen aufbewahrt, wie die in Tabelle 1 erwähnten. Die Temperatur betrug am Tage 20—25° C, in der Nacht etwas weniger.

Tabelle 21. Kulturflüssigkeit: Nährlösung **I.**

Impfmaterial: Schlick aus dem Schreventeich.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
4	26. Oktober	0 %	3 Platinösen	17. November	22	Zimmer	18—24 °

Impfmaterial: Schlick aus dem Schulensee.

Zahl der Kolben	Impftermin	Seesalzgehalt	Menge des Impfmaterials	Erste starke Nitritreaktion	Tage	Standort	Temperatur
4	26. Oktober	0 %	3 Platinösen	19. November	24	Zimmer	18—24 °

Literatur.

[1]) Winogradsky: Contributions à la morphologie des organismes de la nitrification. Archives de sciences biologiques 1892. Bd. 1. H. 1.

[2]) Winogradsky: Die Nitrifikation. Lafar, Handbuch der Technischen Mykologie 1904. Bd. III. S. 161.

[3]) Vernon: The Relations between Marine Animal and Vegetable Life. Mitt. aus der Zoolog. Station zu Neapel 1899. Bd. 13. S. 403.

[4]) Brandt: Über den Stoffwechsel im Meere II. Wissensch. Meeresf. · Kiel 1902. Neue Folge, Bd. 6.

[5]) Gran: Havets Bakterier og deres Stofskifte. S. A. aus „Naturen". Bergen 1903. Citiert bei Nathansohn[6]) S. 364.

[6]) Nathansohn: Über die Bedeutung etc. Abh. der math.-phys. Cl. der Kgl. Sächs. Ges. der Wissensch. 1906. Bd. 29. S. 365.

[7]) Gazert: Deutsche Südpolar-Expedition. Vorkommen und Tätigkeit der Bakterien im Meer. S. 24. S. A. aus den Verhandlungen des XV. Deutschen Geographentages z. Danzig 1905.

[8]) M. Keding: Weitere Untersuchungen über stickstoffbindende Bakterien. Wissensch. Meeresunters., K. Kommission. Abteilung Kiel 1906. S. 295.

[9]) Natterer: Chemische Untersuchungen im östlichen Mittelmeer zitiert bei Brandt[4]). S. 55 ff.

[10]) Stutzer und Hartleb: Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. 3. 1897. S. 353.

[11]) Baur: Über zwei denitrifiz. Bakterien der Ostsee. Wissensch. Meeresf. Kiel. 1902. Neue Folge. Bd. 6. S. 11.

[12]) Gran: Studien über Meeresbakterien I. Bergens Museums Aarbog og Aarsberetning 1901. Citiert bei Nathansohn[6]). S. 364.

[13]) Citiert bei Winogradsky: Die Nitrifikation. Lafar, Handbuch der Technischen Mykologie 1904. Bd. III. S. 136.

[14]) Stutzer: Die Organismen der Nitrifikation. Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. 7. S. 172. 1901.

Vorliegende Arbeit wurde im botan. Institut der Universität Kiel im W.-S. 1905/06 begonnen und im W.-S. 1906/07 beendet. Herrn Geheimrat Prof. Dr. Reinke sowie Herrn Prof. Dr. Benecke spreche ich für die mannigfachen Unterstützungen und Anregungen bei der Ausführung dieser Arbeit meinen ergebensten Dank aus.

Lebenslauf.

Ich, Peter Joachim Thomsen, evangelischer Konfession, hamburgischer Staatsangehörigkeit, wurde geboren in Hamburg am 20. Februar 1883 als Sohn des Postmeisters Ernst Thomsen. Ich besuchte zunächst eine Realschule in Hamburg, später die Realschule in Buxtehude, die ich Michaelis 1900 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Von Michaelis 1900 ab war ich Schüler der Oberrealschule vor dem Holstentore in Hamburg. Michaelis 1903 bestand ich dort die Abgangsprüfung. Bis Ostern 1904 studierte ich Naturwissenschaften in Berlin; darauf brachte ich zwei Semester in Freiburg i. Br. zu. Von Ostern 1905 ab studierte ich in Kiel. Die Promotionsprüfung bestand ich am 30. November 1907.

Meine Lehrer waren:

in Berlin: die Herren Professoren und Dozenten: Buchner, Eberstadt, Horowitz, Jastrow;

in Freiburg i. Br.: die Herren Professoren und Dozenten: Fromm, Günther, Kiliani, Oltmanns, Steinmann, Weismann;

in Kiel: die Herren Professoren und Dozenten: Benecke, Biltz, Brandt, Brauns, Harries, Lenard, Martius, Nordhausen, Reinke, Wülfing.



